FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Calcitonin
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS515

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Calcitonin, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo es útil en la identificación de células C que producen calcitonina, de las que se origina el carcinoma medular de tiroides (MTC) (1). La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un patólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

La calcitonina (CT) es una hormona péptida de 32 aminoácidos que deriva de un precursor que contiene 136 aminoácidos y una secuencia líder N-terminal. La CT contiene una amida prolina carboxiterminal y un puente disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 1 y 7. La secuencia se conserva altamente en una variedad de especies dentro de la región del bucle N-terminal, pero muestra divergencias en el resto de la secuencia. La CT se produce en las células C parafoliculares de la tiroides y actúa a través de sus receptores (CTR), causando una resorción ósea mediada por los osteoclastos y excreción renal de calcio. La sumatoria de pruebas respalda la existencia de péptidos tipo CT no tiroideos en tejidos como cerebro, próstata y útero, lo que sugiere que la CT cumple funciones fisiológicas adicionales (2). La calcitonina es un marcador de tumores confiable, ya que es secretada por las células C normales y en el MTC. El MTC puede ser esporádico (~75% de los casos) o familiar (~25% de los casos); éste último tiene un patrón de herencia autosómica dominante (1, 3).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: (1) Principio del procedimiento, (2) Material necesario pero no suministrado, (3) Almacenamiento, (4) Preparación de la muestra, (5) Procedimiento de tinción, (6) Control de calidad, (7) Solución de problemas, (8) Interpretación de la tinción y (9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de NaN_3.

Inmunógeno

Calcitonina humana sintética, aa 1–32, unida a seroalbúmina bovina (BSA).

Especificidad

El anticuerpo reacciona con calcitonina humana. Las trazas de anticuerpos contaminados se han eliminado mediante la absorción de la fase sólida con proteínas de suero bovino y plasma humano.
El anticuerpo marca fuerte y específicamente a las células C tiroideas humanas, y a otras células que contienen calcitonina. No se ha observado tinción inespecífica alguna.

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ºC. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario deberá comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no puede ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche un problema con el anticuerpo, comuníquese con la asistencia técnica de Dako.

Preparación de las muestras, incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004).

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción, incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus utilizando los siguientes protocolos:
Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de dispensado de 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de dispensado de 300 µL).
Autoprograma: Calci (sin contratinción) o CalciH (con contratinción).
El paso Auxiliar debe configurarse a "tampón de enjuague" en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. Para sesiones de tinción con >10 portaobjetos, el paso Auxiliar debe configurarse a "ninguno". Esto garantiza tiempos de lavado similares.
Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en la plataforma Dako Autostainer utilizada, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción en hematoxicilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El tejido de control positivo debe incluir tiroides, y las células y estructuras deben mostrar patrones de reacción como se describe para este tejido en "Características de resultados" en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS600).

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es citoplasmático.

Características de resultados

Tejidos normales: El anticuerpo marca las células C parafoliculares de la glándula tiroides. No se observa un marcado en la glándula suprarrenal (4).

Tejidos anormales: El anticuerpo marca los carcinomas medulares de tiroides (1). Además, el anticuerpo marcó 6/28 feocromocitomas (4), 7/37 carcinoides de duodeno (5), 2/24 carcinoides gástricos (6), y células tumorales en 11/15 casos; y células de superficie en 2/15 casos de hemangioma esclerosante de pulmón (7). No se observó marcado en 27 casos de carcinomas corticosuprarrenales (4).

Referencias bibliográficas

1. Hayashida CY, Alves VAF, Kanamura CT, Ezabella CL, Abelin NM, Nicolau W, et al. Immunohisto-chemistry of medullary thyroid carcinoma and C-cell hyperplasia by an affinity-purified anti-human calcitonin antiserum. Cancer 1993;72:1356–63.
2. Pondel M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. Int J Exp Pathol 2000;81:405–22.
3. Giuffrida D, Gharib H. Current diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma. Ann Oncol 1998;9:695–701.
4. Komminoth P, Roth J, Schröder S, Saremaslani P, Heitz PV. Overlapping expression of immunohistochemical markers and synaptophysin mRNA in pheochromocytomas and adrenocortical carcinomas. Implications for the differential diagnosis of adrenal gland tumors. Lab Invest 1995;4:424–31.
5. Burke AP, Federspiel BH, Shekitka KM, Helwig EB. Carcinoids of the doudenum. A histologic and immunohistochemical study of 65 tumors. Am J Surg Pathol 1989;13:828–37.
6. Thomas RM, Baybick JH, Elsayed AM, Sobin LH. Gastric carcinoids. An immunohistochemical and clinicopathologic study of 104 patients. Cancer 1994;73:2053–8.
7. Xu H-M, Li W-H, Hou N, Zhang S-G, Li H-F, Wang S-Q, et al. Neuroendocrine differentiation in 32 cases of so-called sclerosing hemangioma of the lung: Identified by immunohistochemical and ultrastructural study. Am J Surg Pathol 1997;9:1013–22.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C 8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17